

令和元年6月18日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2014～2018

課題番号：26111003

研究課題名(和文)低酸素シグナルが拓く生活習慣病の新しい病態制御

研究課題名(英文);The roles of hypoxia signaling in the pathogenesis of lifestyle related diseases

研究代表者

南学 正臣(Nangaku, Masaomi)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：90311620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 92,500,000円

研究成果の概要(和文)：腎臓、肝臓および心臓は生活習慣病の病態に大きく関わる臓器であるが、特にその機能を維持するために多量の酸素・エネルギーを必要としている。研究代表者・分担者は生活習慣病の病態において各臓器での酸素濃度がダイナミックに変化することを明らかにすると共に、低酸素応答機構が病態進展に関与する機構および将来的な治療介入の可能性を示した。更に今後の酸素生物学研究の技術的基盤となる組織酸素濃度の定量的計測系を樹立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により慢性腎臓病、薬剤性肝障害、心不全の病態進展における低酸素シグナルの役割を明らかにすると共に将来的な治療標的候補を同定した。今後、新たな生活習慣病治療介入への応用が期待される。併せて本研究では腎臓における組織酸素濃度の定量的計測を可能にする新規蛍光プローブを用いた解析法を開発した。この手法は腎臓体内の各臓器への応用が可能であり、今後の酸素生物学の進展における重要な技術的基盤になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Kidney, liver or heart consumes a large amount of molecular oxygen to maintain its activity, thus oxygen availability in each organ could influence its function. The molecular link, however, between hypoxic environment and the disease progression has not been fully elucidated.

In this study, we examined the roles of hypoxia inducible factor (HIF)-1 α ; signaling during the pathogenesis of lifestyle related diseases including chronic kidney disease, drug-induced liver injury and heart failure. Based on the in vivo animal models, we identified part of the critical pathways which augment the disease progression. In addition, we established a phosphorescence-based technology where we could measure tissue oxygen concentration quantitatively. These results will help us to gain a novel insight into the pathogenesis of lifestyle related disorders.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：生活習慣病 低酸素 慢性腎臓病 肝臓病 心臓病 炎症 線維化

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病、脂肪肝、心筋梗塞をはじめとする生活習慣病の頻度は年齢と共に増加する一方、依然としてその治療効果は限定的であり、詳細な病態解明と新しい治療法の開発が強く求められている。生活習慣病の病態では、実質細胞の傷害、炎症惹起型および線維化誘導型マクロファージをはじめとする炎症細胞の活性化と終息、線維化の一連の臓器リモデリングと呼ばれる細胞応答が数年以上の長期間に渡って繰り返される。このような臓器リモデリングはある時点までは適応応答として臓器保護的である一方、リモデリングが持続すると不可逆的な臓器機能低下が引き起こされる。しかしながら、未だ不可逆的臓器リモデリングに関わる分子機構については明らかにされておらず、生活習慣病の病態解明における重要な課題として残されたままとなっている。

2. 研究の目的

生活習慣病の発症に大きく関わる腎臓、肝臓、心臓は生体内において特に酸素消費量が高い臓器であり、エネルギーを大量に産生・消費することでその機能と恒常性を維持している。研究代表者・分担者は組織における酸素濃度や酸素環境への生体応答機構がそれぞれ実質細胞、炎症細胞、線維芽細胞の挙動に影響を与えることで、生活習慣病の進展に大きく関わっている可能性を考え研究計画を立案した。具体的には低酸素ストレスをその病態基盤とする生活習慣病の病態形成・進展において酸素環境、酸素応答機構が果たす役割を明らかにすると共に、生活習慣病を発症している臓器の組織酸素濃度を定量的に計測する技術を構築し、酸素応答機構を時空間的に理解すること目的とした。

3. 研究の方法

本研究では慢性腎臓病、薬剤性肝障害および心肥大・心筋梗塞など生活習慣病の病態モデルを用いて解析を行った。特に *in vivo* の解析では、転写レベルでの低酸素応答機構を司る Hypoxia inducible factor (HIF)-1 α を組織特異的に欠損させた遺伝子改変マウスを用いることで低酸素応答機構が病態に果たしている役割を個体レベルで検証した。併せて新たな酸素計測系として燐光プローブを用いて組織酸素レベルの定量的計測を行う技術を確立すべく研究を行った。

4. 研究成果

(1) 生活習慣病の進展における低酸素シグナルの役割

研究代表者の南学は糖尿病性腎症における細胞内代謝様式を解析し、糖尿病に伴ってクエン酸回路の代謝物が腎臓に蓄積し、活性酸素産生が増加すること、またそれらが SGLT2 阻害薬投与により回復することを明らかにした (*Kidney Int.* 2018)。併せて低酸素環境における転写制御とエピジェネティックな変化が慢性腎臓病の進展過程に及ぼす影響を明らかにし、更にその治療介入の可能性を示した (*Kidney Int.* 2015, *Am J Nephrol.* 2016, *Physiol Rep.* 2017)。更にミトコンドリアの以上とそのエネルギー産生に与える影響が腎疾患発症の引き金になっていることを明らかにした (*Mol Cell Biol.* 2017, *Kidney Int.* 2018)。

研究分担者の合田はアセトアミノフェン肝障害において、T細胞特異的 HIF-1 α 遺伝子欠損マウスの肝障害が増悪すること、またこの増悪過程に自然免疫様 $\gamma\delta$ T 細胞における HIF-1 α シグナルが関わっていることを明らかにした (*Hepatology Commun.* 2018)。肝臓から分泌され脾臓に働きかける新規ヘパトカインのニューレグリン 1 が肝糖新生を抑制する因子であることを報告した (*Sci Rep.* 2017)。

同じく研究分担者の武田は合田と共同研究を行い、炎症局所の低酸素領域へのマクロファージ浸潤において、HIF-1 -PDK1 経路を介する解糖系代謝が重要であることを同定した (*Nature Commun.* 2016)。武田はまた、長期間の低酸素環境暴露ががん細胞におけるミトコンドリア呼吸を抑制する機序を明らかにした (*Cancer Res.* 2018)。

(2) 組織酸素レベルの定量的計測法の開発

研究代表者である南学は新規燐光プローブを用いて腎臓の細胞内酸素分圧を定量的に測定する方法を開発、実装した (*Sci Rep.* 2015, *Kidney Int.* 2018)。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計25件)

1. Wake M, Takeda N, Isagawa T, Sato T, Nakagama Y, Morioka MS, Hirota Y, Asagiri M, Maemura K, Manabe I, Tanabe K and Issei Komuro I. Cell cycle perturbation induces collagen production in fibroblasts. *Int Heart J*. 2019 (in press).
2. Minatsuki S, Takeda N, Soma K, Katoh M, Maki H, Hatano M, Takimoto E, Manabe I, Komuro I. Murine model of pulmonary artery overflow vasculopathy revealed macrophage accumulation in the lung. *Int Heart J*. 2019 (in press).
3. Hirakawa Y, Mizukami K, Yoshihara T, Takahashi I, Khulan P, Honda T, Mimura I, Tanaka T, Tobita S, Nangaku M. Intravital phosphorescence lifetime imaging of the renal cortex accurately measures renal hypoxia. *Kidney Int*. 2018;93(6):1483-1489. doi: 10.1016/j.kint.2018.01.015.
4. Tanaka S, Sugiura Y, Saito H, Sugahara M, Higashijima Y, Yamaguchi J, Inagi R, Suematsu M, Nangaku M, Tanaka T. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition normalizes glucose metabolism and suppresses oxidative stress in the kidneys of diabetic mice. *Kidney Int*. 2018;94(5):912-925. doi: 10.1016/j.kint.2018.04.025.
5. Saito H, Tanaka T, Tanaka S, Higashijima Y, Yamaguchi J, Sugahara M, Ito M, Uchida L, Hasegawa S, Wakashima T, Fukui K, Nangaku M. Persistent expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and M2 macrophage markers and chronic fibrosis after acute kidney injury. *Physiol Rep*. 2018;6(10):e13707. doi: 10.14814/phy2.13707.
6. Mimura I, Hirakawa Y, Kanki Y, Nakaki R, Suzuki Y, Tanaka T, Aburatani H, Nangaku M. Genome-wide analysis revealed that DZNep reduces tubulointerstitial fibrosis via down-regulation of pro-fibrotic genes. *Sci Rep*. 2018;8(1):3779. doi: 10.1038/s41598-018-22180-5.
7. Arai T, Tanaka M, Goda N. HIF-1-dependent lipin1 induction prevents excessive lipid accumulation in choline-deficient diet-induced fatty liver. *Sci Rep*. 2018;8(1): 14230. doi: 10.1038/s41598-018-32586-w.
8. Miura Y, Mstui S, Miyata N, Harada K, Kikkawa Y, Ohmuraya M, Araki K, Tsurusaki S, Okochi H, Goda N, Miyajima A, Tanaka M. Differential expression of Lutheran/BCAM regulates biliary tissue remodeling in ductular reaction during liver regeneration. *ELife*. 2018;7. pii: e36572. doi: 10.7554/eLife.36572
9. Suzuki T, Minagawa S, Yamazaki T, Arai T, Kanai M, Shinjo S, Goda N. Loss of hypoxia inducible factor-1 α aggravates $\gamma\delta$ T cell-mediated inflammation during acetaminophen-induced liver injury. *Hepatol Commun*. 2018;2(5): 571-581, 2018. doi:10.1002/hep4.1175
10. Matsumoto L, Hirota Y, Saito-Fujita T, Takeda N, Tanaka T, Hiraoka T, Akaeda S, Fujita H, Shimizu-Hirota R, Igaue S, Matsuo M, Haraguchi H, Saito-Kanatani M, Fujii T, Osuga Y. Hypoxia Inducible Factor 2 α in the uterine stroma permits embryo invasion and luminal epithelial detachment. *J Clin Invest*. 2018;128(7):3186-3197. doi: 10.1172/JCI98931.
11. Yonashiro R, Eguchi K, Wake M, Takeda N, and Nakayama N. Pyruvate dehydrogenase PDH-E1beta is downregulated under prolonged hypoxic condition, and controls the progression of tumor growth by altering the metabolic status in cancer cells. *Cancer Res*. 2018;78(7):1592-1603. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1751.

12. Goodwin J, Choi H, Hsieh MH, Nuegent ML, Ahn JM, Hayenga HN, Singh PK, Shackelford DB, Lee IK, Shulaev V, Dhar S, Takeda N, Kim JW. Targeting HIF-1 α /PDK1 Axis by Dichloroacetate (DCA) Suppresses Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2018;58(2):216-231. doi: 10.1165/rcmb.2016-0186OC.
13. Ishimoto Y, Inagi R, Yoshihara D, Kugita M, Nagao S, Shimizu A, Takeda N, Wake M, Honda K, Zhou J and Nangaku M. Mitochondrial Abnormality Facilitates Cyst Formation in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Mol Cell Biol*. 2017;37:e00337-17. doi: 10.1128/MCB.00337-17.
14. Mimura I, Hirakawa Y, Kanki Y, Kushida N, Nakaki R, Suzuki Y, Tanaka T, Aburatani H, Nangaku M. Novel lnc RNA regulated by HIF-1 inhibits apoptotic cell death in the renal tubular epithelial cells under hypoxia. *Physiol Rep*. 2017;5(8). pii: e13203. doi: 10.14814/phy2.13203.
15. Yamaguchi J, Tanaka T, Saito H, Nomura S, Aburatani H, Waki H, Kadowaki T, Nangaku M. Echinomycin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells in a HIF-independent manner. *Sci Rep*. 2017;7(1):6516. doi: 10.1038/s41598-017-06761-4.
16. Krzywinska E, Kantari-Mimoun C, Kerdiles Y, Sobocki M, Isagawa T, Gotthardt D, Castells M, Haubold J, Millien C, Viel T, Tavittian B, Takeda N, Fandrey J, Vivier E, Sexl V and Stockmann C. Loss of HIF-1 α in Natural Killer cells inhibits tumour growth by stimulating non-productive angiogenesis. *Nature Communications*. 2017;8(1):1597. doi: 10.1038/s41467-017-01599-w.
17. Goodwin J, Neugent ML, Lee SY, Choe JH, Choi H, Jenkins DMR, Ruthenborg RJ, Robinson MW, Jeong JY, Wake M, Abe H, Takeda N, Endo H, Inoue M, Xuan Z, Yoo H, Chen M, Ahn JM, Minna JD, Helke KL, Singh PK, Shackelford DB, Kim JW. Distinct Metabolic Phenotypes within Non-small Cell Lung Cancer Define Selective Vulnerability to Glycolytic Inhibition of Lung Squamous Cell Carcinoma. *Nature Communications*. 2017;8:15503. doi: 10.1038/ncomms15503.
18. Shinjo S, Jiang S, Nameta M, Suzuki T, Kanai M, Nomura Y, *Goda N. Disruption of the Mitochondria-Associated ER Membrane (MAM) Plays a Central Role in Palmitic Acid-Induced Insulin Resistance. *Exp Cell Res*. 2017;359: 86-93. doi: 10.1016/j.yexcr.2017.08.006
19. Arai T, Ono Y, Arimura Y, Sayama K, Suzuki T, Shinjo S, Kanai M, Abe S, Semba K, Goda N. Type I neuregulin1 α is a novel local mediator to suppress hepatic gluconeogenesis in mice. *Sci Rep*. 2017;7:42959. doi: 10.1038/srep42959
20. Takikawa A, Mahmood A, Nawaz A, Kado T, Okabe K, Yamamoto S, Arif A, Senda S, Tsuneyama K, Ikutani M, Watanabe Y, Igarashi Y, Nagai Y, Takatsu K, Koizumi K, Imura J, Goda N, Sasahara M, Matsumoto M, Saeki K, Nakagawa T, Fujisaka S, Usui I, Tobe K. HIF-1 α in myeloid cells promotes adipose tissue remodeling toward insulin resistance. *Diabetes*. 2016;65(12):3649-3659. doi: 10.2337/db16-0012.
21. Karigane D, Kobayashi H, Morikawa T, Ootomo Y, Sakai M, Nagamatsu G, Kubota Y, Goda N, Matsumoto M, Nishimura EK, Soga T, Otsu K, Suematsu M, Okamoto S, Suda T, Takubo K. p38 α Activates Purine Metabolism to Initiate Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Cycling in Response to Stress. *Cell Stem Cell*. 2016;19(2):192-204. doi: 10.1016/j.stem.2016.05.013.

22. Semba H, Takeda N, Isagawa T, Sugiura Y, Honda K, Wake M, Miyazawa H, Yamaguchi Y, Miura M, Jenkins DM, Choi H, Kim JW, Asagiri M, Cowburn AS, Abe H, Soma K, Koyama K, Katoh M, Sayama K, Goda N, Johnson RS, Manabe I, Nagai R and Komuro I. HIF-1 α -PDK1 axis induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity. *Nature Communications* 2016;7:11635. doi: 10.1038/ncomms11635.
23. Fujimoto Y, Urashima T, Shimura D, Ito R, Kawachi S, Kajimura I, Akaike T, Kusakari Y, Fujiwara M, Ogawa K, Goda N, Ida H, Minamisawa S. Low Cardiac Output Leads Hepatic Fibrosis in Right Heart Failure Model Rats. *PLoS One*. 2016;11(2):e0148666. doi: 10.1371/journal.pone.0148666.
24. Hirakawa Y, Yoshihara T, Kamiya M, Mimura I, Fujikura D, Masuda T, Kikuchi R, Takahashi I, Urano Y, Tobita S, Nangaku M. Quantitating intracellular oxygen tension in vivo by phosphorescence lifetime measurement. *Sci Rep*. 2015;5:17838. doi: 10.1038/srep17838.
25. Suzuki T, Shinjo S, Arai T, Kanai M, Goda N. Hypoxia and Fatty liver. *World J Gastroenrol*. 2014;20(41):15087-15097. doi: 10.3748/wjg.v20.i41.15087.

〔学会発表〕(計 32 件)

1. Nangaku M. Keystone Symposium. "The Role of Hypoxia and HIF in Tubule Injury" 招待講演 2019.3.5 Whistler, Canada
2. Takeda N. Keystone Symposium. "Roles of Ly6Chi macrophages hypoxia signaling in cardiac fibrosis" 2019.1.15 Colorado, U.S.A.
3. Nangaku M. Annual Meeting of the American Society of Nephrology. "AKI to CKD Transition" 招待講演 2018.10.26 San Diego, U.S.A.
4. Nangaku M. Annual Meeting of the American Society of Nephrology. "The Burden of CKD; Challenges and Successes" 招待講演 2018.10.27 San Diego, U.S.A.
5. Nangaku M. Annual Meeting of the Hong Kong Society of Nephrology. "The AKI to CKD Continuum: a Clinical Perspective" 招待講演 2018.9.29 Hong Kong
6. Nangaku M. Annual Meeting of the Malaysian Society of Nephrology. "Anemia treatment in CKD: Update" 招待講演 2018.7.28 Penang, Malaysia
7. Takeda N. "The roles of glucose and lactate metabolism in the regulation of mitochondrial respiration" Hypoxia Research Meeting 招待講演 2018.7.19 Tokyo, Japan
8. Goda N. "Pathological role of HIF-1 in the liver" Hypoxia Research Meeting 招待講演 2018.7.19 Tokyo, Japan
9. Nangaku M. Annual Meeting of the Korean Society of Nephrology. "New insights into AKI to CKD continuum and the role of maladaptive repair" 招待講演 2018.5.19 Seoul, Korea
10. Nangaku M. Annual Meeting of the Australia-New Zealand Society of Nephrology "Metabolic memory and hypoxic memory: epigenetics in diabetic nephropathy" 招待講演 2017.9.5 Darwin, Australia
11. Takeda N. Keystone Symposium. "HIF-1 α -PDK1 axis induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity" 招待講演 2017.3.9 Whistler, Canada
12. Nangaku M. Annual Meeting of the American Society of Nephrology "Hypoxia inducible factors in diabetic nephropathy" 招待講演 2016.11.19 Chicago, U.S.A.
13. Nangaku M. Asian Pacific Congress of Nephrology "Epigenetics of renal disease" 招待講演 2016.9.20 Perth, Australia
14. Takeda N. HDRC International Symposium. "HIF-1 α -PDK1 axis induced by active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity" 招待講演 2016.6.17 Icheon, Korea
15. Nangaku M. European Renal Association/European Dialysis and Transplantation Association. "Development of novel drugs targeting renal hypoxia and anemia" 招待講演 2016.5.24 Vienna, Australia
16. Nangaku M. International Congress of Nutrition and Metabolism in Renal Disease. "Hypoxia and persistent inflammation in CKD" 招待講演 2016.4.22 Okinawa, Japan
17. Nangaku M. European Renal Association/European Dialysis and Transplantation Association. "Development of novel drugs targeting CKD: hypoxia, oxidative stress, and epigenetics" 招待講演 2015.5.30 London, U.K.
18. Nangaku M. World Congress of Nephrology. "Hypoxia and Renal Disease" 招待講演 2015.3.15 Cape Town, South Africa
19. Nangaku M. Annual Meeting of the American Society of Nephrology "Hypoxia, HIF, fibrosis, and CKD" 招待講演 2014.11.15 Philadelphia, U.S.A.
20. 武田憲彦. "組織リモデリングにおける低酸素シグナル" 第 92 回日本薬理学会年会 招待講演 (2019 年 3 月 15 日)
21. 合田亘人. "自然免疫様 T 細胞の HIF-1 による急性炎症制御機構の解明" 第 91 回日本生化学会 (2018 年 9 月 24 日)
22. 合田亘人. "新しい糖新生調節因子の探索とその機能解析" 第 5 回肝臓と糖尿病・代謝

- 研究会 招待講演 (2018年7月21日)
23. 南学正臣. “慢性腎臓病における心・血管障害” 第10回日本下肢救済・足病学会学術集会 招待講演 (2018年7月14日)
 24. 武田憲彦. “The roles of glucose and lactate metabolism in the regulation of mitochondrial respiration” 第6回低酸素研究会・酸素生物学領域国際シンポジウム 招待講演 (2018年7月6日)
 25. 合田巨人. “Pathological role of HIF-1 in the liver” 第6回低酸素研究会・酸素生物学領域国際シンポジウム 招待講演 (2018年7月6日)
 26. 南学正臣. “慢性腎不全治療薬の開発 その課題と今後への期待” 第61回日本腎臓学会 招待講演 (2018年6月9日)
 27. 武田憲彦. “低酸素誘導性肺血管リモデリングにおける炎症細胞の役割” 第9回日本生理学会 招待講演 (2017年7月30日)
 28. 武田憲彦. “マクロファージ活性化における細胞内グルコース代謝の役割” 第20回日本適応医学学会 招待講演 (2016年12月16日、東京コンベンションホール)
 29. 合田巨人. “低酸素応答システムが拓く代謝性疾患の新しい病態理解” 第20回酸素ダイナミクス研究会 招待講演 (2016年11月19日)
 30. 武田憲彦. “HIF-1 α -PDK1 経路を介した代謝リプログラミングはマクロファージ遊走能を促進する” 第37回日本肥満学会 招待講演 (2016年10月18日)
 31. 合田巨人. “Metabolic diseases and HIF-1” 第89回日本生化学会 招待講演 (2016年9月26日)
 32. 武田憲彦. “心血管リモデリングにおける炎症細胞・低酸素シグナルの役割” 第48回日本動脈硬化学会 招待講演 (2016年7月14日)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：合田 巨人
ローマ字氏名：Goda, Nobuhito
所属研究機関名：早稲田大学
部局名：理工学術院
職名：教授
研究者番号(8桁)：00245549

研究分担者氏名：武田 憲彦
ローマ字氏名：Takeda, Norihiko
所属研究機関名：東京大学
部局名：医学部附属病院
職名：特任講師
研究者番号(8桁)：40422307

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。